

УДК 576.893.19 : 598.8

© 1995

ОСОБЕННОСТИ ГАМЕТОГЕНЕЗА, ФОРМИРОВАНИЯ ЗИГОТЫ И ООКИНЕТЫ
У *HAEMOPROTEUS LANII* И *H. MINUTUS* (HAEMOSPORIDIA: HAEMOPROTEIDAE)
IN VITRO

Г. А. Валькюнас, Т. А. Ежова

Проведено сравнительное изучение гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты у *Haemoproteus lanii* и *H. minutus* на светооптическом уровне in vitro. Выявлены признаки, которые могут использоваться при определении этих одноклеточных животных. Проанализированы основные отличительные признаки гамет, зигот и оокинеты у изученных в настоящее время видов гемопроteid (Haemoproteidae) птиц.

В последние годы все чаще появляются публикации (Bishop, Bennett, 1989; Bennett e. a., 1992; Burry-Caines, Bennett, 1992), в которых проводится описание новых видов гемоспоридий (Haemosporidia) лишь на том основании, что они обнаружены у птиц различных семейств и даже подсемейств одного отряда, хотя морфологически их нельзя отличить от описанных ранее близкородственных видов. Одновременно приводится недостаточно обоснованная синонимизация давно используемых в литературе видовых названий. Экспериментальные сведения о круге хозяев большинства видов гемоспоридий птиц отсутствуют. Исследование специфичности гемоспоридий – трудоемкая и дорогостоящая работа, требующая содержания в лаборатории большого числа диких птиц, в том числе экзотических, а также их переносчиков. Одним из путей выхода из сложившейся ситуации является поиск новых признаков, которые могут быть использованы в систематике. Ранее было установлено, что сравнительное изучение гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты гемопроteid (Haemoproteidae) птиц в стандартных условиях in vitro позволяет выделить ряд хороших признаков, которые могут использоваться для уточнения и расширения диагнозов видов (Валькюнас, Ежова, 1993, 1994). Среди этих признаков прежде всего отметим длину микрогамет, строение зигот, морфологические особенности трансформации зиготы в оокинету, размеры оокинеты, а также скорость формирования оокинеты in vitro. Комбинация перечисленных признаков у разных видов довольно разнообразна и информативна, что дает возможность проводить определение многих видов без знания морфологии гаметоцитов в периферической крови. Накопление информации по особенностям развития гемоспоридий в стандартных условиях in vitro существенно расширяет сведения о межвидовой дивергенции и позволяет решить некоторые таксономические проблемы. В настоящей работе приводится описание процесса развития in vitro еще 2 видов гемопроteid птиц – *Haemoproteus lanii* Mello, 1936 и *H. minutus* Valkiūnas et Iezhova, 1992.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал собран на Биологической станции Зоологического института Академии наук России на Куршской косе Балтийского моря в мае 1994 г. Птиц отлавливали паутинными сетями, брали у них кровь и отсаживали в специальные садки. Мазки крови высушивали на воздухе, фиксировали метанолом, окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали. Самцы соответствующих видов птиц, в крови которых регистрировалась чистая инвазия соответствующими видами гемопротеид, использовались в дальнейших исследованиях. Среди них

Таблица 1

Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты у *Haemoproteus lanii* и *H. minutus* in vitro
Table 1. Gametogenesis, zygote and ookinete formation of *Haemoproteus lanii* and *H. minutus* in vitro

| Стадия развития | Время после экспозиции крови, содержащей зрелые гаметоциты, на воздухе | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--|
| | минуты | | | | | | | часы | | | | | | | |
| | 1 | 3 | 5 | 10 | 15 | 30 | 45 | 1 | 1.5 | 3 | 6 | 12 | 24 | 48 | |
| Гаметоциты округляются, 2, 6 | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | |
| Гаметоциты покидают эритроциты, 3, 7 | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | |
| Макрогаметы, 4 | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | ● ■ | |
| Эксфлагелляция, 9 | ■ | ■ | ● ■ | ■ | ● | ● | ● ■ | | | ● ■ | | | | | |
| Микрогаметы, 10 | | | ■ | ■ | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | | ● ■ | |
| Оплодотворение макрогамет, 11 | | | | ■ | ● | ● | ● | ● | | | ■ | | | | |
| Зиготы, 12 | | | | ■ | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | |
| Начальные стадии формирования оокинет, 13 | | | | | | | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | |
| Среднесформированные оокинеты, 14 | | | | | | | ● | ● | ● | ■ | ● | ● | ■ | ■ | |
| Оокинеты с остаточным телом, 15 | | | | | | | ● | ● | ● | | ● | ● | ■ | ■ | |
| Оокинеты без остаточного тела, 16 | | | | | | | | | ● | ● | ● | ● | ■ | ■ | |

Примечание. Числа в графе „Стадия развития” соответствуют стадиям на рис. 1 и 2. Виды гемопротеид: ● — *Haemoproteus minutus*; ■ — *H. lanii*; отсутствие знака — временные интервалы, в которых паразит на соответствующей стадии развития не обнаружен.

3 обыкновенных жулана (*Lanius collurio* L.), зараженных *Haemoproteus lanii* Mello, 1936 и 1 черный дрозд (*Turdus merula* L.), зараженный *H. minutus* Valkiūnas et Iezhova, 1992. Интенсивность заражения птиц, которые были использованы в эксперименте по определению скорости гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты *in vitro* составила 31 гаметоцит на 1000 эритроцитов (95 %-ный доверительный интервал 20–42) у обыкновенного жулана, зараженного *H. lanii*, и 24 (15–35) у черного дрозда, зараженного *H. minutus*.

Кровь зараженных птиц брали из сердца, быстро помещали на часовое стекло и разводили 3.7 %-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1 часть раствора на 4 части крови. Через определенные промежутки времени после экспозиции крови на воздухе (табл. 1) готовили мазки. Их высушивали на воздухе, фиксировали метанолом, окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали. Для предотвращения быстрого высыхания раствора с кровью часовое стекло помещали в чашку Петри, на дно которой клали смоченный в дистиллированной воде лист фильтровальной бумаги. Работа выполнена в условиях лаборатории, где температура воздуха поддерживалась на уровне 18–20°.

Коллекционные препараты со всеми описанными в данной статье стадиями развития гемопротеид хранятся в Институте экологии, г. Вильнюс (Литва).¹

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процессы гаметогенеза, оплодотворения, формирования зиготы и оокинеты у *Haemoproteus lanii* и *H. minutus* *in vitro* проходят по единой схеме (рис. 1, 2). А именно: зрелые гаметоциты укорачиваются, округляются и покидают зараженный эритроцит. Каждый освободившийся из клетки-хозяина макрогаметоцит без каких-либо видимых под световым микроскопом преобразований трансформируется в макрогамету, а микрогаметоцит – претерпевает эксфлагелляцию, в результате которой формируется крупное остаточное тело и змеевидные микрогаметы. Максимальное число последних равно 8. Сразу после появления микрогамет отмечается оплодотворение макрогамет и формируется зигота, которая через определенное время трансформируется в удлинённую оокинету. Развитие оокинеты включает стадию формирования остаточного тела, которое отделяется от оокинеты и содержит часть цитоплазмы и все пигментные гранулы или их часть. Эти превращения у всех изученных видов гемопротеид *in vitro* проходят единообразно. Однако детали процесса существенно отличаются у разных видов и могут быть условно разделены на 2 группы – морфологические признаки и особенности, связанные со временем формирования тех или иных стадий. Рассмотрим эти две группы признаков подробнее.

ВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В МОРФОЛОГИИ НЕКОТОРЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ГЕМОПРОТЕИД *IN VITRO*

Haemoproteus lanii и *H. minutus* относительно слабо воздействуют на зараженный эритроцит в момент освобождения из него. Округлившись гаметоциты обоих видов обычно покидают морфологически не измененные или лишь незначительно измененные эритроциты (рис. 1, 3, 7; 2, 3, 7). Отметим, что в округлившись макро-

¹ Авторы глубоко признательны директору Биологической станции ЗИНа АН России д-ру К. В. Большакову за предоставленную прекрасную возможность проведения исследований на станции, а также всем сотрудникам станции за помощь при отлове, определении птиц и консультации по орнитологии.

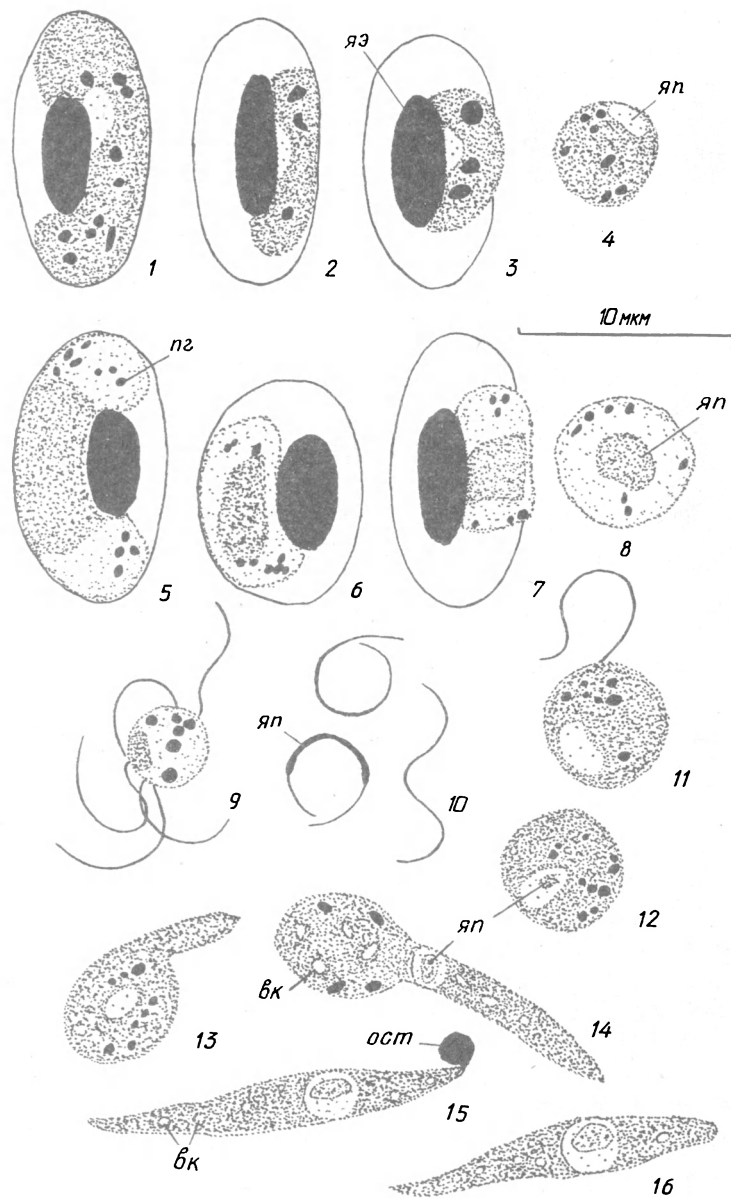


Рис. 1. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты *Haemoproteus lanii* in vitro.

1, 5 — зрелые макрогаметоцит (1) и микрогаметоцит (5) в периферической крови птиц до начала гаметогенеза; 2, 3 — округляющийся макрогаметоцит; 4 — макрогамета; 6, 7 — округляющийся микрогаметоцит; 8 — свободный микрогаметоцит; 9 — эксфлагелляция; 10 — микрогаметы; 11 — оплодотворение макрогаметы; 12 — зигота; 13 — начальная стадия формирования оокинеты; 14 — среднесформированная оокинета; 15 — оокинета с остаточным телом; 16 — оокинета без остаточного тела; вк — вакуоль; ост — остаточное тело; пг — пигментные гранулы; яп — ядро паразита; яз — ядро эритроцита.

Fig. 1. *Haemoproteus lanii* gametogenesis, zygote and ookinete formation in vitro.

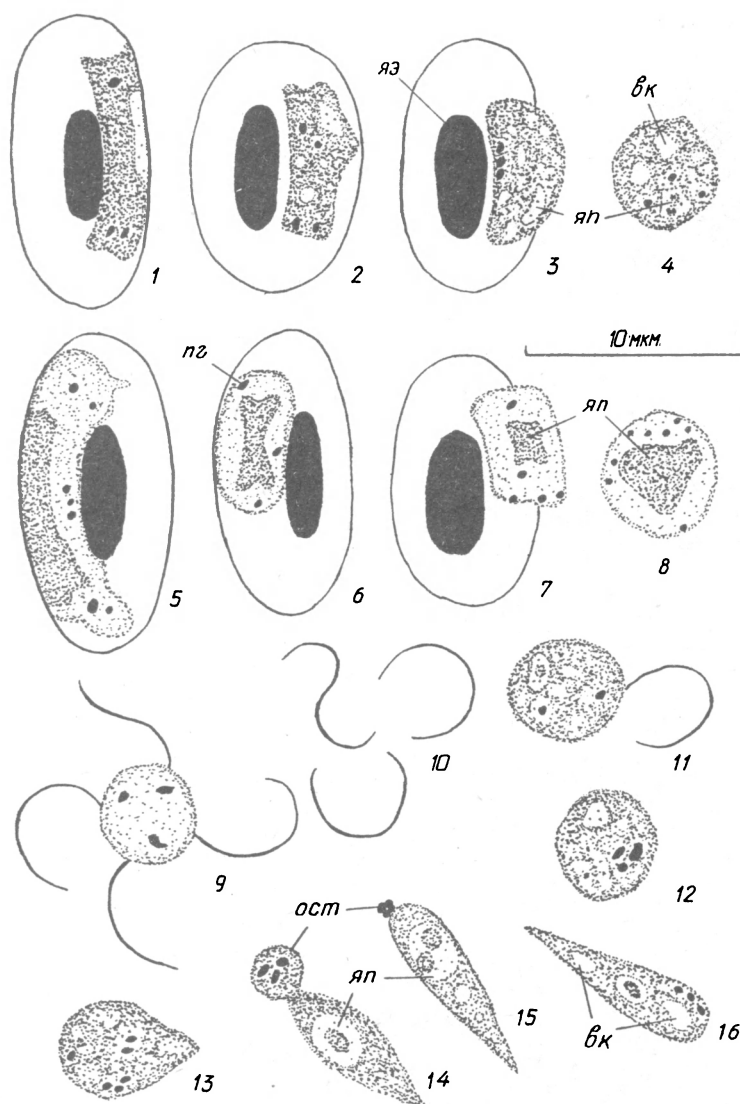


Рис. 2. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты *Haemoproteus minutus* in vitro.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. *Haemoproteus minutus* gametogenesis, zygote and ookinete formation in vitro.

гаметоцитах *H. lanii* часто отмечается агрегация пигмента в крупные массы (рис. 1, 3).

Освободившиеся из эритроцитов макрогаметоциты дают начало макрогаметам. Они округлой формы, содержат хорошо различимое ядро и гранулы пигмента. Макрогаметы *H. minutus* обычно содержат нескольких вакуолей (рис. 2, 4). Кроме того, ядро паразита выглядит как компактный сгусток хроматина, окруженный более светлым участком цитоплазмы (рис. 2, 4, 11). Эти структуры не удавалось наблюдать в макрогаметах у *H. lanii* (рис. 1, 4, 11). Размеры макрогамет у обоих видов практически совпадают (табл. 2).

После освобождения из эритроцитов у макрогаметоцитов отмечается эксфла-

Таблица 2

Морфометрические признаки гамет и оокинет двух видов гемопротеусов (*Haemoproteus*)Table 2. Morphometric parameters of gametes and ookinetes of two species of *Haemoproteus*

| Признак | <i>H. minutus</i> | | | | <i>H. lanii</i> | | | |
|-------------|-------------------|----------|-----------|---------------|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| | <i>n</i> | lim | \bar{X} | $m_{\bar{x}}$ | <i>n</i> | lim | \bar{X} | $m_{\bar{x}}$ |
| Макрогамета | 11 | | | | 31 | | | |
| длина | | 4–6.6 | 5.4 | 0.3 | | 4.4–6 | 5.3 | 0.2 |
| ширина | | 3.9–5.9 | 4.5 | 0.2 | | 4.1–5.6 | 4.8 | 0.1 |
| Микрогамета | 10 | | | | 10 | | | |
| длина | | 6.7–11.3 | 9.5 | 1.1 | | 10.6–12.4 | 11.8 | 0.4 |
| ширина | | 0.5–0.9 | 0.7 | 0.1 | | 0.7–0.9 | 0.8 | 0.1 |
| Оокинета | 31 | | | | 41 | | | |
| длина | | 7.2–10.1 | 8.3 | 0.3 | | 13.8–18.4 | 16.2 | 0.4 |
| ширина | | 2.1–3.6 | 2.8 | 0.1 | | 1.7–2.6 | 2.2 | 0.1 |

Примечание. Все размеры даны в микрометрах.

гелляция (рис. 1, 9; 2, 9). На этой стадии развития хорошо различимо крупное остаточное тело, от которого беспорядочно отходят жгутоподобные выросты, дающие начало микрогаметам. Форма остаточного тела округлая или овальная. Максимальное число микрогамет равно 8. Строение микрогамет у изучаемых видов идентично (рис. 1, 10; 2, 10). Они представляют собой змеевидные тела с более или менее выраженным центрально расположенным ядром. Длина микрогамет *H. minutus* достоверно меньше, чем у *H. lanii* ($t_d = 19.2$, $P < 0.001$) (табл. 2).

Процесс оплодотворения макрогамет проходит единообразно у обоих видов (рис. 1, 11; 2, 11). В это же время регистрируются первые зиготы. Зиготы у *H. minutus* морфологически нельзя отличить от макрогамет. Ядро в зиготах *H. lanii* содержит хорошо выраженное ядрышко, которое не удавалось наблюдать в макрогаметах второго вида (рис. 1, 11, 12).

Процесс трансформации зиготы в оокинету у изучаемых видов четко отличается. Формирование оокинеты *H. lanii* начинается с появления пальцевидного выроста, расположенного по касательной к основному телу оокинеты (рис. 1, 13). По мере роста оокинеты этот вырост увеличивается в размерах и дает начало переднему (апикальному) концу оокинеты (рис. 1, 14). На противоположном конце у среднесформировавшихся оокинет отмечается скопление пигментных гранул. У сформировавшихся оокинет пигмент концентрируется на дистальном конце в виде крупной компактной массы, которая в последствие отделяется от паразита (рис. 1, 15). В полностью сформировавшихся оокинетах *H. lanii* пигмент обнаружить не удавалось (рис. 1, 16). На всех стадиях развития в оокинетах *H. lanii* присутствует несколько мелких вакуолей, а ядро обычно содержит четко выраженное ядрышко (рис. 1, 13–16). Форма сформировавшихся оокинет *H. lanii* удлинено-веретенообразная (рис. 1, 16). Формирование оокинеты *H. minutus* идет без образования четко выраженных выростов. Одна из сторон зиготы заостряется и вытягивается, давая начало переднему концу оокинеты (рис. 2, 13). На противоположном конце оокинеты появляется четко выраженная перетяжка, отделяющая

остаточное тело со значительной частью цитоплазмы с гранулами пигмента (рис. 2, 14). У более сформированных оокинет остаточное тело уменьшается в размерах и в конечном итоге представляет собой компактное скопление дискретных гранул пигмента (рис. 2, 15). Полностью сформировавшаяся оокинета имеет морковевидную форму с одним резко заостренным, а другим – закругленным концом (рис. 2, 16). Важно отметить, что форма сформировавшихся оокинет *H. minutus* весьма стабильна и не подвержена существенным вариациям, что редко отмечается у гемопротеид. В сформировавшихся оокинетах *H. minutus* обычно имеется несколько вакуолей и гранулы пигмента, а в ядре присутствует одно, реже два четких компактных скопления хроматина (рис. 2, 15–16).

Длина оокинет *H. minutus* примерно в 2 раза меньше, чем у *H. lanii* (табл. 2).

ВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ФОРМИРОВАНИИ НЕКОТОРЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ГЕМОПРОТЕИД IN VITRO ВО ВРЕМЕНИ

Формирование макрогамет у обоих изученных видов происходит примерно с одинаковой скоростью. Макрогаметы регистрируются через 1 мин после экспозиции крови на воздухе (табл. 1). Эксфлагелляция начинается быстрее у *H. lanii*. Первые эксфлагеллирующие клетки у этого паразита отмечены через 1 мин, а у *H. minutus* – через 5 мин. Эксфлагелляция *H. lanii* в основном завершается через 10 мин, в то время как у *H. minutus* массовая эксфлагелляция регистрируется через 15 мин после начала эксперимента. Однако процесс копуляции у *H. minutus* проходит быстрее, чем у *H. lanii*. В результате чего массовое появление зигот у обоих видов имеет место примерно в одно и то же время, т. е. через 15 мин.

Оокинеты *H. minutus* развиваются быстрее, чем *H. lanii* (табл. 1). Через 45 мин после экспозиции крови на воздухе у *H. minutus* отмечены все переходные стадии от зигот до оокинет с остаточным телом. У *H. lanii* трансформация зиготы в оокинету начинается позднее и проходит медленнее. Оокинеты с остаточным телом у этого паразита развиваются примерно в 4 раза медленнее, чем у *H. minutus*. Оокинеты без остаточного тела у *H. lanii* формируются примерно в 2 раза медленнее, чем у *H. minutus*. Тем не менее оба изученных паразита относятся к группе видов, формирование оокинет которых in vitro происходит быстро и завершается в течение 3 ч и быстрее.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительное изучение гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты в стандартных условиях in vitro ранее проведено у 7 видов гемопротеид (Haemoproteidae) птиц – *Haemoproteus fringillae* Labbé, 1894; *H. majoris* (Laveran, 1902), *H. baltoralis* Peirce, 1984; *H. tartakovskyi* Valkiūnas, 1986; *H. belopolskyi* Valkiūnas, 1989; *H. pallidus* Valkiūnas et Iezhova, 1991; *H. dolniki* Valkiūnas et Iezhova, 1992) (Валькюнас, Ежова, 1993, 1994). Были выделены наиболее информативные признаки, которые могут быть использованы в систематике этих одноклеточных животных. Среди них следует прежде всего отметить длину микрогамет, строение зигот, морфологические особенности трансформации зиготы в оокинету, размеры оокинет, а также скорость формирования оокинеты in vitro. Установлено, что комбинация перечисленных признаков у изученных видов гемопротеид весьма разнообразна и информативна, что дает возможность проводить видовую дифференциацию без знания морфологии гаметоцитов в периферической крови.

В настоящей работе список гемопротеид, развитие in vitro которых изучено, дополнен еще двумя видами – *Haemoproteus lanii* и *H. minutus*. Развитие in vitro

Таблица 3

Основные отличительные признаки гамет, зигот и оокинет у *Haemoproteus balmorali*, *H. belopol-skyi*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. lanii*, *H. majoris*, *H. minutus*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* при развитии in vitro

Table 3. Main diagnostic signs of gametes, zygotes and ookinetes of *Haemoproteus balmorali*, *H. belopol-skyi*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. lanii*, *H. majoris*, *H. minutus*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* during the development in vitro

- 1(8). Средняя длина микрогамет и сформировавшихся оокинет более 10 мкм.
- 2(11). Зиготы не содержат крупных (2 мкм в диаметре и более) вакуолей.
- 3(14). Средняя длина сформировавшихся оокинет менее 17 мкм. Оокинет с остаточным телом при температуре 18–29° формируются быстрее, чем через 24 ч.
- 4(15). Пигментные гранулы в остаточном теле оокинет не образуют монолитную крупную агрегацию. Оокинет с остаточным телом при температуре 18–20° формируются в течение 6–12 ч.
- 5(16). Оокинет содержат крупные (более 1 мкм в диаметре) вакуоли. Средняя ширина сформировавшихся оокинет более 2.5 мкм.
- 6(7). Оокинет с остаточным телом и полностью сформированные оокинет при температуре 18–24° формируются быстрее, чем через 12 ч. *H. majoris*
- 7(6). Оокинет с остаточным телом и полностью сформировавшиеся оокинет при температуре 18–24° формируются более 12 ч. *H. dolniki*
- 8(1). Средняя длина микрогамет и сформировавшихся оокинет менее 10 мкм.
- 9(10). Минимальные размеры макрогамет менее 5 мкм в диаметре. В цитоплазме оокинет имеются вакуоли. Один из концов полностью сформировавшихся оокинет резко заострен. *H. minutus*
- 10(9). Минимальные размеры макрогамет более 5 мкм в диаметре. В цитоплазме оокинет вакуоли отсутствуют. Оба конца полностью сформировавшихся оокинет закруглены. *H. pallidus*
- 11(2). Зигота содержит одну крупную (2 мкм в диаметре и более) вакуоль.
- 12(13). Пальцевидный вырост на начальной стадии развития оокинет имеется. ... *H. balmorali*
- 13(12). Пальцевидный вырост на начальной стадии развития оокинет отсутствует. *H. fringillae*
- 14(3). Средняя длина сформировавшихся оокинет более 17 мкм. Оокинет с остаточным телом при температуре 18–20° формируются более 24 ч. *H. tartakovskyi*
- 15(4). Пигментные гранулы в остаточном теле оокинет образуют одну крупную монолитную агрегацию. Оокинет с остаточным телом при температуре 18–20° формируется быстрее, чем через 6 ч. *H. lanii*
- 16(5). Оокинет не содержат крупных (более 1 мкм в диаметре) вакуолей. Средняя ширина сформировавшихся оокинет менее 2.5 мкм. *H. belopol-skyi*

этих двух паразитов отличается по ряду хороших признаков (рис. 1, 2; табл. 1, 2). Среди них прежде всего отметим следующие. Во-первых, длина микрогамет и сформировавшихся оокинет *H. minutus* достоверно меньше, чем *H. lanii*. Во-вторых, формирование оокинет *H. lanii* начинается с появления длинного пальцевидного выроста, что нехарактерно для *H. minutus*. Более того, сформировавшиеся оокинет *H. minutus* имеют относительно стабильную морковевидную форму с одним резко заостренным и другим закругленным концом, что не отмечается у *H. lanii*, оокинет которого характеризуются более вариабельной формой. В-третьих, оокинет с остаточным телом у *H. minutus* формируются примерно в 4 раза быстрее, чем у *H. lanii*. Тем не менее оба паразита относятся к группе видов гемопротейд, у которых оокинет с остаточным телом in vitro формируются быстро, т. е. не более чем через 3 ч после экспозиции крови на воздухе. У всех других изученных в настоящее время видов, за исключением *H. pallidus*, этот процесс проходит значительно медленнее и завершается не ранее, чем через 6 ч (Валькюнас, Ежова, 1993, 1994).

Развитие *H. minutus* in vitro наиболее похоже на таковое у *H. pallidus* (Валькюнас, Ежова, 1993). У обоих видов оокинет с остаточным телом формируются чрезвычайно быстро – в течение 30–45 мин после экспозиции крови на воздухе. Оба

вида имеют короткие микрогаметы, длина которых статистически не отличается ($t_d = 0.6$; $P > 0.05$). Однако *H. minutus* можно отличить от *H. pallidus* по форме и длине оокинеты. Оокинеты *H. minutus* достоверно короче, чем у *H. pallidus* ($t_d = 2.1$; $P < 0.05$). Более того, они имеют один резко заостренный конец, что не отмечено у *H. pallidus*. По небольшой длине оокинеты *H. minutus* можно легко отличить от всех изученных в настоящее время видов гемопроteid птиц.

Развитие *H. lanii* in vitro наиболее похоже на таковое у *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. majoris* и *H. tartakovskyi* (Валькюнас, Ежова, 1993, 1994). От этих видов *H. lanii* хорошо отличается прежде всего по значительно более быстрому развитию оокинеты с остаточным телом, которые отмечаются через 3 ч, а также по наличию крупной компактной агрегации пигмента в остаточном теле оокинеты (рис. 1, 15).

Основные отличительные признаки 9 видов гемопроteid птиц, развитие которых in vitro в настоящее время подробно изучено, суммированы в табл. 3. Эта таблица составлена в виде определительного ключа, в котором отражены главные особенности рассматриваемых видов. Изложенные в табл. 3 данные наглядно демонстрируют возможность составления определителя видов гемоспоридии с привлечением данных по развитию паразитов in vitro. Дальнейшее накопление информации по гаметогенезу, формированию зиготы и оокинеты в стандартных условиях in vitro крайне необходимо для уточнения и расширения диагнозов многих видов, а также для изучения их дивергенции.

Список литературы

- Валькюнас Г. А., Ежова Т. А. Гаметогенез, формирование зиготы и оокинеты у некоторых видов гемопроteid (Haemosporidia: Haemoproteidae) птиц in vitro // Паразитология. 1993. Т. 27, вып. 1. С. 19–35.
- Валькюнас Г. А., Ежова Т. А. Особенности гаметогенеза, формирования зиготы и оокинеты у некоторых видов гемопроteid (Haemosporidia: Haemoproteidae) птиц in vitro // Паразитология. 1994. Т. 28, вып. 1. С. 36–47.
- Bennett G. F., Earlé R. A., Peirce M. A. The Leucocytozoidae of South African birds: Passeriformes // Onderstepoort J. vet. Res. 1992. Vol. 59. P. 235–247.
- Bishop M. A., Bennett G. F. The haemoproteids of the avian order Strigiformes // Can. J. Zool. 1989. Vol. 67. P. 2676–2684.
- Burroughs-Caines J. R., Bennett G. F. The Haemoproteidae (Apicomplexa: Haemosporidia) of the avian families Fringillidae and Emberizidae s. l. // Can. J. Zool. 1992. Vol. 70, N 6. P. 1149–1160.

Институт экологии, Вильнюс, Литва

Поступила 6.03.1995

PECULIARITIES OF THE GAMETOGENESIS, ZYGOTE AND OOKINETE FORMATION OF HAEMOPROTEUS LANII AND H. MINUTUS (HAEMOSPORIDIA: HAEMOPROTEIDAE) IN VITRO

G. A. Valkūnas, T. A. Iezhova

Key words: *Haemoproteus*, gametogenesis, zygote, ookinete, birds.

SUMMARY

Observations were made through examination of thin blood films which were prepared at appropriate intervals from citrated fresh blood of infected birds. The comparative description of gametogenesis, zygote and ookinete formation of *Haemoproteus lanii* and *H. minutus* under the light microscope is given. The most informative signs, which can be used for haemoproteid systematics, were determined and compared with such signs of *H. balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. fringillae*, *H. majoris*, *H. pallidus*, *H. tartakovskyi* (Валькюнас, Ежова, 1993, 1994). Among them the microgamete length, zygote structure,

morphological peculiarities of developing ookinete as well as the rate of ookinete formation can be pointed out first of all.

Microgametes of *H. minutus* and *H. pallidus* are nearly twice shorter than the microgametes of other species. A large clear vacuole is formed in zygote of *H. balmorali* and *H. fringillae* only. The majority of diagnostic features have the developing ookinetes. Three types of initial stages in ookinete formation were distinguished. The first type is characteristic of *Haemoproteus balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. dolniki*, *H. lanii*, *H. majoris* and *H. tartakovskyi*. Ookinete formation in these species starts with the appearance of thin long digital growth. In the course of development this growth increases in size and gives the beginning to the apical end of ookinete. The second type is characteristic of *H. fringillae*. In this species a short blunt growth appears in the middle part of the parasite. The growth stretches itself and the forming ookinete is put into the shape of a pear. The third type is observed in *H. minutus* and *H. pallidus*. Ookinete formation in these species occurs without the development of any expressed growths. One side of the zygote becomes prolonged, thus giving the beginning of ookinete. The ookinetes of *H. minutus* and *H. pallidus* are nearly twice shorter than the ookinetes of other species. There were clear differences between haemoproteid species on the rate of ookinete formation. The ookinetes of *H. balmorali*, *H. belopolskyi*, *H. fringillae*, *H. majoris* are formed significantly more slowly than *H. lanii*, *H. minutus* and *H. pallidus* ones, and significantly more rapidly than *H. dolniki* and *H. tartakovskyi* ones.

The peculiarities of gametogenesis, zygote and ookinete formation under the stable conditions in vitro can be used as useful additional signs for determination of haemoproteid species.